

10 • Examens bactériologiques des liquides de ponction (liquides des séreuses infectées)

Plan du chapitre

1. Contexte
2. Objectifs
3. Prélèvement et transport
4. Méthodes bactériologiques
 1. Examen direct
 2. Cultures
 3. Interprétation des cultures

1 • Contexte

L'infection de liquides internes normalement stériles amène souvent une morbidité et une mortalité élevées. En conséquence la mise en oeuvre de méthodes bactériologiques efficaces et performantes doit permettre l'isolement et la caractérisation des espèces bactériennes en cause afin de permettre une meilleure prise en charge thérapeutique du patient.

Les bactéries susceptibles d'être isolées dans ces liquides sont diverses et imprévisibles, elles appartiennent à toutes les catégories bactériologiques : aérobies, aéro-anaérobies facultatives, anaérobies strictes. Ces bactéries ne posent pas de difficultés de culture, ces sites normalement stériles peuvent être infectés par une ou plusieurs espèces auxquelles il faut ajouter les mycobactéries en recherche spécifique (mais qui n'est pas envisagée ici). La difficulté principale rencontrée est celle des bactéries commensales (ou supposées telles) de la peau ou des muqueuses pouvant apparaître comme des contaminations du prélèvement mais dont il faudra discuter l'origine en fonction du contexte clinique et de la qualité du prélèvement.

2 • Objectifs

Il faut faire le diagnostic d'une infection dans un site normalement stérile ou dans lequel une infiltration a amené un épanchement liquidien pouvant héberger des bactéries susceptibles de s'y multiplier.

Les liquides internes concernés :

1. Liquide de ponction articulaire ou synoviale
2. Liquide pleural
3. Liquide péritonéal
4. Liquide d'ascite
5. Liquide péricardique
6. Kyste (ex : kyste pilonidal)

Toutes les bactéries doivent être recherchées, certaines plus spécifiquement :

- ◆ dans un liquide articulaire : *N. gonorrhoeae* ; dans un contexte d'arthrite septique la recherche de *Borrelia burgdorferi* par amplification génique *in vitro* est à envisager selon des procédures particulières.

Quelques exemples non limitatifs d'isolements possibles dans certaines infections

Suppuration hépatique (souvent plurimicrobiennes)	<i>Enterobacteriaceae</i> Anaérobies <i>Streptococcus « milleri »</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus spp</i>
Péritonite primitive	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i>
Péritonite secondaire (perforation d'organe creux, infections biliaires ou abcès)	<i>Enterobacteriaceae</i> Anaérobies <i>Enterococcus spp</i>
Ascite infectée (cirrhotique)	<i>Enterobacteriaceae</i> Streptocoques Anaérobies <i>Enterococcus spp</i>
Suppuration intestinale	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Streptococcus « milleri »</i>
Péritonite post-chirurgicale	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Enterococcus spp</i> Anaérobies
Pleurésie	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Haemophilus influenzae</i> Anaérobies
Ostéomyélite de l'enfant	<i>Staphylococcus aureus</i>
Ostéomyélite et spondylodiscite	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Arthrite aiguë	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Infection sur prothèse articulaire	<i>Staphylococcus aureus</i> (multirésistants) <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative <i>Peptostreptococcus</i>

3 • Prélèvements et transport

Prélèvements et transport			
Produit	Mode de prélèvement	Transport	Commentaire
Liquides internes divers (liquide péricardique, pleural, abdominal, articulaire, ponctions diverses)	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Conditions anaérobies : seringue sans bulle d'air bouchée stérilement et hermétiquement (3 ml). ◆ Ajouter un tube stérile normal pour recherche de bactéries aérobies et un tube avec anticoagulant pour examen cytologique. 	<ul style="list-style-type: none"> < 30 mn 20°C 	Associer deux hémocultures réalisées avant traitement

Pour la recherche de gonocoque, utiliser le milieu de Stuart gélosé. Pour ces liquides, les prélèvements à l'aide d'écouvillons secs sont à déconseiller formellement. Il faut obtenir une quantité de liquide suffisamment importante pour réaliser l'ensemble des examens bactériologiques et disposer d'un inoculum bactérien adéquat car dans ces liquides, celui-ci peut être faible au départ de l'infection. Il faut également des précautions d'asepsie rigoureuse pour éviter une contamination par la flore commensale cutanéomuqueuse. On peut privilégier la culture seule en inoculant directement un flacon de type hémoculture (méthode qui n'était pas recommandée jusqu'à présent mais qui s'avère efficace lorsque le volume et la quantité de bactéries sont faibles).

4 • Méthodes bactériologiques

1- Examen direct

Il est important dans ces liquides présumés stériles. Deux approches sont possibles :

- la quantité de liquide obtenu est faible (ou les ponctions de kystes) : réaliser une coloration de Gram ;
- la quantité est suffisante : réaliser une numération des éléments figurés puis une formule après cyto-centrifugation et coloration cytologique (pour les cellules non identifiées : leur détermination est du domaine de la cyto-pathologie) ; réaliser une coloration de Gram.

2- Cultures

La centrifugation des liquides internes présumés stériles est préconisée par certains (1500 g x 30 min). Il ne faut néanmoins pas perdre de vue que cette centrifugation exposera le prélèvement à une action encore plus dramatique de l'oxygène (effet néfaste sur les anaérobies) et augmente les manipulations au laboratoire (risques de contamination).

On pratiquera :

- ◆ Un ensemencement large d'un bouillon de culture riche (type coeur-cervelle) incubé en aérobiose et observé journallement, conservé à 37°C, (4 jours en moyenne et pour les liquides articulaires 10 jours) ;
- ◆ Un ensemencement d'un bouillon pour anaérobies.
- ◆ Des isollements aérobies sur :
 - gélose au sang ;
 - milieu sélectif pour bactéries à Gram négatif ;
 - gélose chocolat incubée en atmosphère de CO₂ à 35°C (selon le contexte gélose BCYE *Legionella* ; si corynéformes à l'examen direct: milieu au Tween) ;
- ◆ Un isolement en anaérobiose sur gélose au sang préréduit ;

En fonction du contexte clinique (immunodéprimé, antécédents de tuberculose), milieu de Sabouraud pour levures, *Aspergillus* (incubé entre 22°C et 30°C) et milieux de cultures pour *Mycobacterium* (conservés 8 semaines) et *Nocardia* (10 jours).

3- Interprétation des cultures

Il faut mettre en parallèle le résultat des cultures aérobie et anaérobie.

Les milieux solides sont examinés au bout de 24 et 48 heures. Les bouillons seront conservés. Le résultat n'est considéré négatif qu'au delà du 10^e jour en particulier pour les liquides de ponction articulaire.

Pour les liquides articulaires, un résultat positif est très en faveur d'une infection ; en revanche, un résultat négatif ne l'exclut pas car il peut exister dans ce site des bactéries en faible quantité, quiescentes ou non cultivables. Pour les autres prélèvements, l'interprétation est souvent plus aisée.

Dans tous ces sites, y compris dans le liquide péritonéal où il peut y avoir un envahissement polymicrobien, l'identification de l'ensemble des espèces bactériennes isolées est recommandée.

Toutefois, la présence d'une culture mixte (plus de 3 espèces bactériennes, aucune n'étant prédominante) amène à discuter l'identification précise de toutes les espèces isolées et doit conduire à une confrontation avec la clinique avant de poursuivre en conservant les isolements.

4- Sensibilité aux antibiotiques

La détermination systématique de la CMI ou des CMI's des molécules utilisées dans le traitement (telle que le recommande la nomenclature du 30 juillet 1997) semble excessive.

Bibliographie

Processing and interpretation of sterile body fluids in : Clinical Microbiology Procedures Handbook - Vol. 1 - H.D. ISENBERG, A.S.M. Washington DC 1992.

FLANDROIS J.P., CHOMARAT M. - L'examen bactériologique des liquides de drainage non purulents - In : Bactériologie Médicale Pratique - Medsi/Mc Graw - Hill, Paris ; 1988.

MURRAY P.R. and coll. Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. ASM Press, Washington DC 1995.

